

Suivre à la trace l'AMP cyclique dans un circuit neuronal n'est plus une utopie !

Plus de trente ans après sa découverte, l'AMP cyclique, second messager pionnier de la signalisation intracellulaire, est aujourd'hui une entité « visible » à l'échelle cellulaire. Dès 1991, la visualisation de la production de l'AMP cyclique *in situ* par une cellule isolée (un fibroblaste ou une cellule musculaire lisse en culture) a engendré une nouvelle « révolution » dans le domaine de la signalisation [1]. Aujourd'hui, la « révolution » s'intensifie avec la visualisation de la diffusion de cette petite molécule dans un circuit neuronal, mettant en lumière un mécanisme fondamental de la transmission nerveuse [2]. Par leurs caractéristiques structurales et topographiques particulières, par leurs propriétés d'excitabilité et leur capacité de transmettre l'information (grâce aux neurotransmetteurs), les neurones constituent un modèle de choix pour une étude chronologique et structurale de la production d'AMP cyclique dans un système cellulaire. En outre, l'AMP cyclique est impliqué dans la voie de transmission du signal de nombreux neuromodulateurs au niveau du système nerveux. Le principe de la technique permettant de visualiser la production d'AMP cyclique par une cellule unique repose sur la capacité de ce nucléotide de se lier à l'unité régulatrice R de la protéine kinase A, entraînant la dissociation de l'unité catalytique C de l'enzyme. Lorsqu'au sein du complexe enzymatique R2C2, les unités régulatrices et catalytiques sont couplées, respectivement, à la fluorescéine et la rhodamine, un transfert d'énergie a lieu entre ces deux marqueurs fluorescents. En revanche, ce transfert s'interrompt lorsque le complexe se dissocie en

présence d'AMP cyclique, modifiant ainsi le spectre d'émission de la fluorescence de l'enzyme. Cette technique mise au point par une équipe californienne a permis de visualiser la production d'AMP cyclique par une cellule isolée, ayant reçu l'holoenzyme fluorescente par micro-injection, et stimulée par une hormone ou un neurotransmetteur [1]. Elle redouble d'intérêt lorsqu'on peut l'appliquer à un système cellulaire qui nécessite une résolution spatiale et temporelle. Une grande première vient ainsi d'être réalisée avec la visualisation spatio-temporelle de la production d'AMP cyclique dans un neurone en réponse à une stimulation électrique. Cette performance a eu lieu dans un ganglion stomatogastrique de homard utilisé comme modèle de circuit neuronal. Ce ganglion, constitué de nombreux neurones moteurs et interneurons, contrôle l'activité des muscles striés de l'estomac. Les connexions neuronales sont assurées par des neuromodulateurs sécrétés par les fibres nerveuses du nerf stomatogastrique, certains agissant *via* l'AMP cyclique. La visualisation de la production d'AMP cyclique dans le ganglion a permis d'explorer la dynamique d'apparition des signaux de transduction impliqués dans l'activation neuronale. Tout d'abord, la perfusion du ganglion avec différents neuromodulateurs, comme l'octapamine, la dopamine, la sérotonine ou la procétole, augmente de manière transitoire l'AMP cyclique dans le soma des cellules ganglionnaires. Alors que chaque modulateur induit une réponse AMP cyclique qui lui est propre (cellule cible spécifique), l'activité électrophysiologique de la

cellule ciblée est simultanément augmentée. Une stimulation électrique directe (de 2-3 min) du nerf afférent, susceptible d'induire la sécrétion synaptique des neuromodulateurs endogènes, augmente également la production d'AMP cyclique dans le

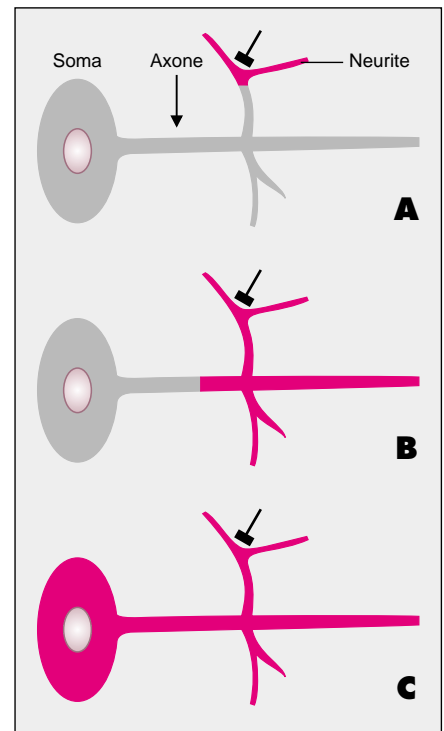


Figure 1. **Représentation schématique de la diffusion spatio-temporelle de l'AMP cyclique dans un neurone.** En réponse à une stimulation électrique, les neuromodulateurs sécrétés au niveau synaptique produisent une augmentation locale d'AMP cyclique dans les neurites les plus fins (A), qui s'étend ensuite aux structures plus larges (B), puis au soma (C).

soma des neurones, mais plus tardivement que la stimulation de l'activité électrophysiologique du neurone (observée en quelques secondes). Le neurone ganglionnaire ayant une structure particulièrement complexe avec un arbre neuritique très étendu, l'hypothèse d'une réponse plus précoce dans d'autres régions du neurone a été proposée et a, en effet, été vérifiée : une augmentation d'AMP cyclique dans les neurites les plus fins (2-3 μm de diamètre) a été détectée dans la seconde suivant la stimulation électrique. Mieux, il faut attendre 6 secondes de plus pour voir augmenter l'AMP cyclique dans les neurites primaires plus larges. Bien que les limites de la méthode ne permettent pas de visualiser le phénomène, les neurites de moins de 1 μm sont probablement les premiers concernés par la production d'AMP cyclique.

Alors que la réponse précoce des neurites les plus fins est en accord avec le fait qu'ils sont le lieu de structures synaptiques, et donc la cible privilégiée de la neuromodulation, une stimulation électrique plus longue a permis de mettre en évidence un profil centripète d'augmentation de l'AMP cyclique : les neurites fins présentent une réponse rapide (la moitié de la réponse maximale est obtenue après 24 s) puis sont concernés les neurites primaires (53 s) et enfin le soma (245 s) (*figure 1*). La sécrétion synaptique de neuromodulateurs au niveau du ganglion se traduit ainsi par un signal AMP cyclique suffisamment rapide pour engendrer l'activation du circuit nerveux. La diffusion de l'AMP cyclique à partir de son site de production constitue donc un mécanisme par lequel les signaux neuromodulateurs permettent la

coordination des fonctions dans les régions du neurone physiquement séparées, comme les synapses des neurites. En outre, la diffusion de l'AMP cyclique dans le soma est probablement un phénomène en relation directe avec l'implication biologique probable de ce second messager dans la régulation de l'expression de gènes, des conséquences à long terme sur les propriétés des neurones pouvant naturellement être envisagées.

B.A.

1. Adams SR, Harootunian, Buechler YJ, Taylor SS, Tsien RY. Fluorescence ratio imaging of cyclic AMP in single cells. *Nature* 1991 ; 349 : 694-7.
2. Hempel CM, Vincent P, Adams SR, Tsien RY, Selverston AI. Spatio-temporal dynamics of cyclic AMP signals in an intact neural circuit. *Nature* 1996 ; 384 : 166-9.